第 33 卷 第 1 期 昆虫学报 Vol. 33, No. 1
1990 年 2 月 ACTA ENTOMOLOGICA SINICA Feb., 1990

灭幼脲 I 号对致倦库蚊幼虫磷酸酶活力的影响*

吴秋雁

(中山大学昆虫学研究所，广州)

摘要 本文用稍加改良的磷酸苯二钠法，测定了经灭幼脲 I 号处理的致倦库蚊 4 龄期幼虫的酸性磷酸酶 (ACP) 和碱性磷酸酶 (AKP) 活力的变化，发现被处理幼虫的这两种磷酸酶活力均受到影响。在整个 4 龄期，灭幼脲 I 号对 AKP 活力的抑制都比较明显，抑制强度甚至达 80%，对 ACP 活力的抑制则比较弱；但在化蛹前，当对照幼虫的 ACP 活力增高时，被处理幼虫的 ACP 活力却下降，致使两者活力也相差一倍以上。由于灭幼脲 I 号对幼虫两种磷酸酶产生明显的抑制作用，从而导致幼虫的生长发育缓慢，幼虫 4 龄期延长，幼虫不能化蛹而终于死亡。

关键词 致倦库蚊 灭幼脲 I 号 磷酸酶

自 1985 年冬季以来，我们在广东省番禺县市桥镇及大岗镇，用灭幼脲 I 号喷洒蚊幼虫孳生地均取得良好的效果。灭幼脲类制虫剂是一种昆虫生长调节剂，它的杀虫效应一般较为缓慢。关于它的作用机理，据国外资料主要认为是由于表皮的几丁质合成酶受到抑制，使昆虫变态受阻而死亡。我们在蚊虫的试验工作中同样观察到这种现象，但我们同时注意到更多的情况是幼虫一直不能化蛹而死亡。死于幼虫期的个体相当多，而这时并非几丁质合成期，那么，几丁质合成受阻一说便不足以解释这些幼虫死亡的原因。

磷酸酶包括酸性磷酸酶 (ACP) 和碱性磷酸酶 (AKP) 广泛存在于不同种类昆虫中。它们参与中间代谢，对昆虫的生长发育和变态起着重要作用。蚊虫体内也存在这两种酶。Edward (1959) 曾对埃及伊蚊雌成虫的酸性磷酸酶进行过研究，我们研究灭幼脲 I 号对致倦库蚊幼虫这两种磷酸酶作用的影响，以期探讨幼虫致死的原因。

材料和方法

灭幼脲 I 号由江苏省金坛昆虫激素研究所合成，样品结晶纯度 >95%。

试验用蚊虫为室内饲养或野外收集的致倦库蚊 (*Culex pipiens fatigans*) 的 4 龄期幼虫。幼虫置于 26—28℃ 下用蒸馏水饲养，每天饲喂由 95% 面粉、3% 酵母粉及 2% 猪肝粉组成的混合饲料。

灭幼脲 I 号处理组是称取灭幼脲 I 号结晶粉末 5 毫克，加入丙酮 0.5 毫升，再加入两三滴吐温-80，以蒸馏水配成浓度为 100ppm 的母液，然后按各次试验所需要的浓度进行稀释，不同浓度处理均用 500 毫升的烧杯，盛放药液 400 毫升和幼虫 50 头。同样条件下

本文于 1987 年 4 月收到.

* 文稿承蒲蛰龙、利翠英教授审阅，胡奕传同志绘图，在此一并致谢.

设对照组，每组三个重复。给以同量饲料，每天取样测定幼虫的磷酸酶活力变化，同时记录死亡虫数。

磷酸酶的测定是随意取幼虫 5 头，用滤纸吸干体表的水分，称重后放入小匀浆管，加入 0.5 毫升 0.7% NaCl 溶液，置于冰浴中匀浆 1—2 分钟，再用同一盐溶液稀释匀浆液至 1.5 毫升，以 1500 转/分离心 15 分钟，倾出上清液待测。测定的方法为稍加改良的磷酸苯二钠法，主要原理是磷酸酶分解磷酸苯二钠，产生游离酚和磷酸，酚在碱性溶液或酸性溶液中，与 4-氨基安替比林作用，经铁氰化钾氧化生成红色醌的衍生物，根据颜色的深浅，在 721 型分光光度计测出光密度值，酶活力按下列公式计算：

$$\text{幼虫的酶活力(金氏单位)} = \frac{\text{测得的单位} \times 1.5}{n \times 5}$$

n 为测定时所取样品的毫升数

结　　果

（一）灭幼脲 I 号处理后幼虫的变化

经灭幼脲 I 号处理的 4 龄期幼虫体重均较正常对照幼虫为轻（图 1），并且大部分个体死于幼虫期，所用浓度愈大，幼虫死亡率愈高。幼虫尸体胀大呈乳白色，同时发现被处理后的幼虫 4 龄历期普遍延长，浓度低延长时间更长。这种幼虫也能部分化蛹。浓度较低时，化蛹数目增多（表 1）。这都说明灭幼脲 I 号对幼虫的生长发育产生有阻滞的作用。

（二）4 龄期幼虫两种磷酸酶的活力

从酶活力与作用时间的关系看出，在我们的试验条件下，30 分钟时间内，ACP 活力和 AKP 活力基本呈直线递增；其中 ACP 活力与作用时间的相关性较 AKP 为明显（图 2），说明致倦库蚊幼虫体内确实存在两种磷酸酶。再从酶活力与匀浆体积的关系中看到，两

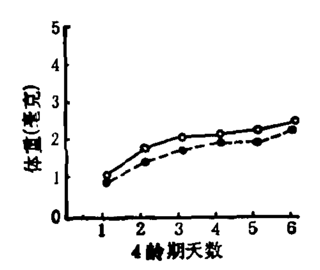


图 1　幼虫体重变化的比较

○—○正常　●--●处理

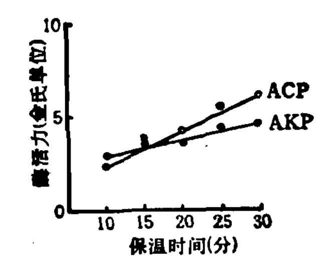


图 2　两种磷酸酶与作用时间关系

表 1　灭幼脲 I 号处理后幼虫的死亡率

项　目	试验虫数	死亡幼虫	4 龄历期（天）	幼虫死亡率（%）
对　照	300	15	5—6	5
0.01ppm	300	168	12—13	56
0.02ppm	300	270	11—12	90
0.05ppm	300	282	7—8	94

种磷酸酶活力随匀浆体积的增加而提高，同一体积匀浆中，AKP 活力比 ACP 活力强(图 3)，说明在 4 龄期的幼虫体内 AKP 较 ACP 为活跃。

在 4 龄期中，幼虫的 AKP 活力连续上升，到第 4 天时呈现一高峰，化蛹前活力迅速下降，蛹期继续下降(图 4)。ACP 活力则不断升高，整个幼虫期无明显下降，化蛹后活力更高(图 5)，这表现出两种酶不同的生理功能。在一般情况下，AKP 主要起合成作用，故在幼虫生长期中活力增高，蛹期时下降；ACP 主要起异化作用，它参与蛹期的组织分解，其活力在蛹期继续上升。

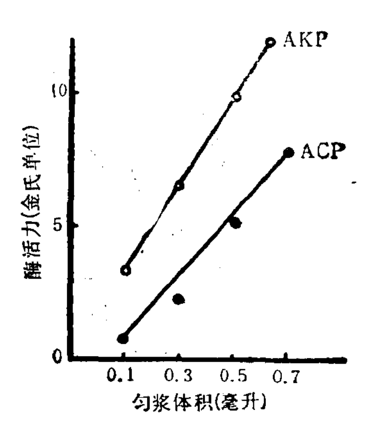


图 3　两种磷酸酶与浓度的关系

(三) 灭幼脲 I 号对碱性磷酸酶活力的影响

经灭幼脲 I 号处理的 4 龄期幼虫，其 AKP 活力受到明显的抑制，经 0.01ppm 和 0.5ppm 两种浓度处理，该酶活力半小时内均开始受到抑制，被处理的幼虫在整个 4 龄期的 AKP 活力明显低于正常。正常幼虫 4 龄期第 4 天的酶活力出现一高峰，而经 0.01ppm 浓度处理的幼虫，其活力峰下降 2/3；经 0.5ppm 浓度处理的幼虫，根本没有出现此峰，这时其酶活力比正常的低约 80%(图 6、7)。说明灭幼脲 I 号对幼虫的减性磷酸酶活力有强烈的抑制作用。

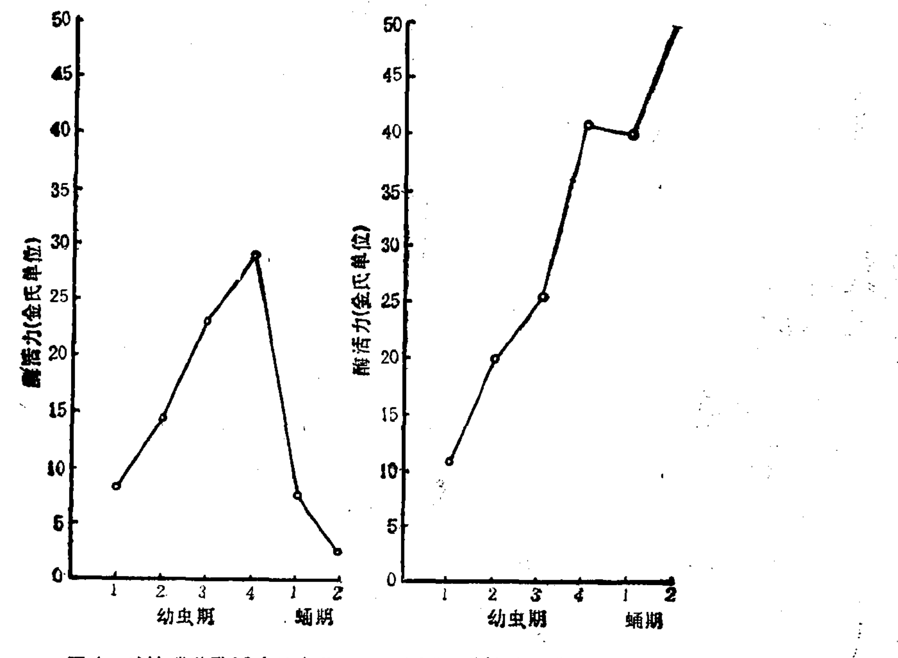


图 4　碱性磷酸酶活力的变化　　图 5　酸性磷酸酶活力的变化

(四) 灭幼脲 I 号对酸性磷酸酶活力的影响

经灭幼脲 I 号处理的 4 龄期幼虫，其 ACP 活力同样受到影响，处理幼虫整个 4 龄期

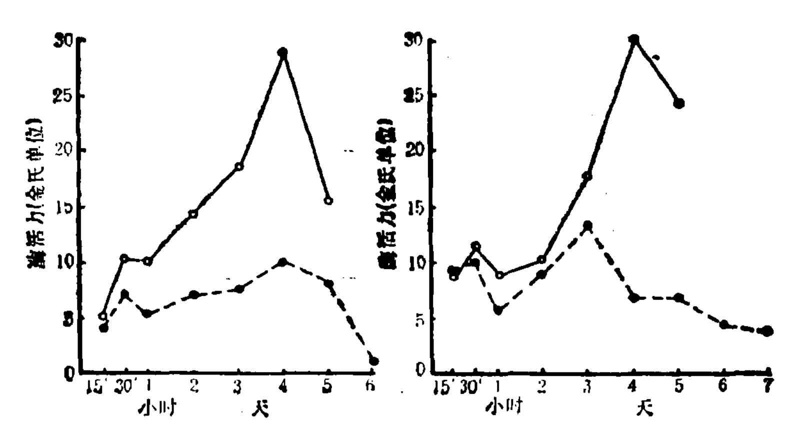


图 6 0.01ppm 灭幼脲 I 号对 AKP 活力的影响　　图 7 0.5ppm 灭幼脲 I 号对 AKP 活力的影响

○—○正常 ●---●处理

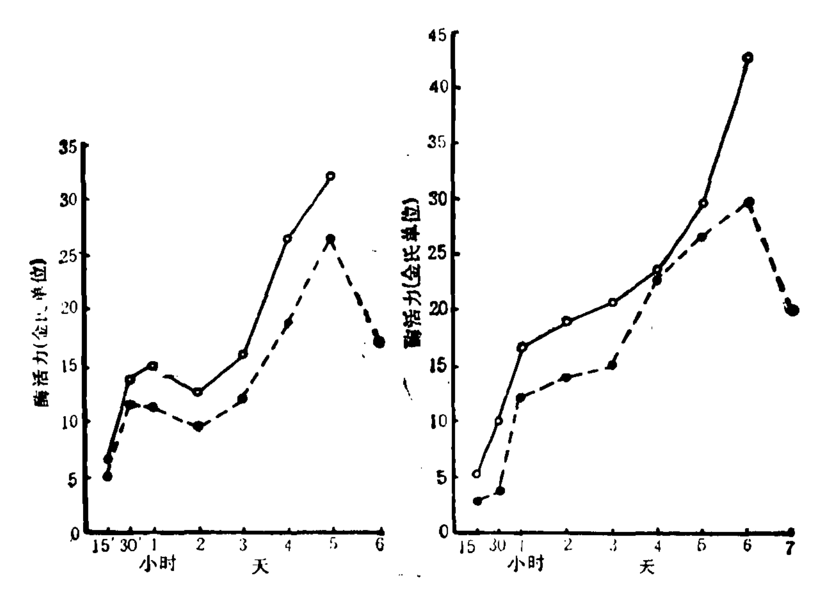


图 8 0.01ppm 灭幼脲 I 号对 ACP 活力的影响　　图 9 0.5ppm 灭幼脲 I 号对 ACP 活力的影响

○—○正常 ●---●处理

的 ACP 活力均低于正常。当正常幼虫化蛹前的 ACP 活力增高时，处理幼虫的 ACP 活力不仅没有增高，反而下降，抑制作用亦随所用浓度的提高而有所增强（图 8、9）。表明灭幼脲 I 号对酸性磷酸酶活力同样产生抑制作用。

灭幼脲 I 号对 4 龄期幼虫两种磷酸酶的抑制使幼虫生长发育缓慢，妨碍了幼虫的化蛹进程，延长了 4 龄历期，有的甚至不能化蛹，幼虫即使化蛹，也难正常羽化。

讨　　论

关于灭幼脲类制虫剂的制虫机理，国外的文献主要认为是对昆虫表皮几丁质合成的阻遏，但也有不少关于灭幼脲类影响 DNA 合成和影响内分泌及其他酶系的报道（张宗

炳，1982)。由于经处理后的昆虫往往不能正常蜕皮，所以人们着重研究的是昆虫表皮方面的生理变化。我们用灭幼脲 I 号防制蚊虫试验的过程中同样看到这种情况，即幼虫不能顺利蜕皮，或蜕皮一半成为半蛹半幼虫而死亡，这是由于蜕皮过程受阻的原故。但在试验中，我们观察到更多的情况是幼虫的死亡，即幼虫不到蜕皮时便死亡，死于幼虫态；同时发现处理后的幼虫，其 4 龄历期大大延长，如果所用浓度较低，幼虫也能化蛹，但这种蛹却往往不能正常羽化，这似乎不能完全用几丁质合成受阻的观点来解释了。Post 等(1974)曾经指出"灭幼脲类除了使昆虫几丁质合成不足外，在整个蜕皮阶段，各种物质的合成可能均受阻"。我们根据灭幼脲 I 号是一种生长调节剂，它可能对不同的酶类有影响而进行了研究。结果证明，它明显抑制蚊幼虫的两种磷酸酶的活力，直接抑制了幼虫的正常生长，延长了幼虫历期，终使幼虫不能进一步发育而死亡。这样，上述所观察到的情况便可得到初步的解释。

Mulder 等(1973)指出，昆虫生长调节剂可能干扰昆虫的取食活动。Soltani 等(1984)证实，灭幼脲可以影响黄粉虫围食膜的形成。据 Radwan 等 (1986) 报道，喂饲灭幼脲类化合物后，引起海灰翅夜蛾的 4 龄期幼虫取食量减少，幼虫生长速度减慢。我们则观察到，经灭幼脲 I 号处理后，蚊幼虫体重普遍减轻，同时幼虫中肠的蛋白酶活力下降，因此估计，灭幼脲 I 号很可能也影响蚊幼虫的取食。总之，通过研究我们认为，灭幼脲类制虫剂的制虫机理并非只是影响昆虫表皮的几丁质合成，它的作用看来是多方面的。它主要影响昆虫的生长发育，虫体内多种物质的代谢都受到了影响。至于这是初效应还是次效应的问题，则仍有待进一步探讨。

参　考　文　献

张宗炳　1982　昆虫毒理学的新进展。第 39—72 页。北京大学出版社。

Edward, N. L. 1959 A study of acid phosphatase of the mosquito *Aedes aegypti* L. *J. Insect Physiol.* 3: 325—34.

Mulder, R. et al. 1973 The laboratory evaluation of two promising new insecticides which interfere with cuticle deposition. *Pestic. Sci.* 4: 737—45.

Post, L. C. et al. 1974 1-(2,6-Disubstituted benzoyl)-3-phenylurea insecticides: Inhibitors of chitin synthesis. *Pestic. Biochem. Physiol.* 4: 474—83.

Radwan, H. S. A. et al. 1986 Some aspects of the action of diflubenzuron and trifluron on food consumption, growth rate and food utilization by *Spodoptera littoralis larvae*. *J. Insect Physiol.* 32(2): 103—8.

Soltani, N. et al. 1984 Effects of Diflubenzuron on the pupaladult development of *Tenebrio molitor* L: Growth and development, cuticle secretion, epidermal cell density and DNA synthesis. *Pestic. Biochem. Physiol.* 21: 256—64.

EFFECTS OF DIFLUBENZURON ON PHOSPHATASE ACTIVITIES IN THE LARVAE OF *CULEX PIPIENS FATIGANS*

WU TSIU-YAN

(Research Institute of Entomology, Zhongshan University, Guangzhou)

The effects of diflubenzuron (DFBZ) on the activities of alkaline phosphatase (AKP) and acid phosphatase (ACP) in the fourth instar larvae of the mosquito *Culex pipiens fatigans* were studied. The results showed that after cultivation of the larvae in water containing DFBZ of 0.01 ppm and 0.5 ppm their AKP activity declined markedly and may reach a 80% decrease. Their ACP activity was also depressed. The ACP activity of the untreated larvae would increase at the pre-pupation period, but the activity of the treated larvae decreased at that time. Presumably the decrease of phosphatase activities impeded the growth and pupation of the treated larvae. The inhibitory effect of DFBZ on phosphatase activities seems to be one of the important factors causing the death of the mosquito larvae.

Key words *Culex pipiens fatigans*——diflubenzuron——phosphatase